

Kortisolhalten och hjärtfrekvensen som ett mått på känslotillståndet och stressnivån hos suggor

Fanny Bäck

Licentiatavhandling i veterinärmedicin

Avdelningen för klinisk produktionsdjursmedicin

Veterinärmedicinska fakulteten

Helsingfors universitet

2016



Tiedekunta - Fakultet – Faculty Veterinärmedicinska fakulteten		Osasto - Avdelning – Department Avdelningen för klinisk produktionsdjursmedicin	
Tekijä - Författare - Author Fanny Alice Bäck			
Työn nimi - Arbetets titel - Title Kortisolhalten och hjärtfrekvensen som ett mått på känslotillståndet och stressnivån hos sugor			
Oppiaine - Läroämne - Subject Djurhållning och -välfärd			
Työn laji - Arbetets art -Level Licentiatavhandling		Aika - Datum - Month and year 09/2016	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 34
<p>Tiivistelmä - Referat - Abstract</p> <p>Målet med denna licentiatavhandling var att utveckla metoder med vilka man kan mäta stressnivån hos sugor med hjälp av kortisolhalten och hjärtfrekvensen. Sugor utsätts för olika typer av stress och stressen är en naturlig förutsättning för inlärning samt utveckling. Stressen ger sig uttryck i olika fysiologiska förändringar, bland annat en förändring i kortisolhalten och hjärtfrekvensen. Det har konstaterats sugor som hålls fixerade i bur ofta lider mer av fysiologisk stress än sugor som hålls i box.</p> <p>Försöket utfördes i Foulum Research Center i Foulum, Danmark under sommaren 2015. I den här undersökningen tog vi reda på hur 14 dräktiga sugor reagerade på olika stressmoment. Suggorna förflyttades från boxar till grisningsburar respektive nya grisningsboxar, och kortisolhalten och hjärtfrekvensen mättes före, under och efter flytten. Dessutom utfördes ett grisskriktest 2–4 dagar efter grisningen där suggans hjärtfrekvens mättes i samband med den egna griskultingens skri. Kortisolhalten mättes med salivprov medan hjärtfrekvensen mättes med ett pulsbälte.</p> <p>Resultaten visar att till skillnad från tidigare försök sjönk kortisolhalten akut vid förflyttningen av suggorna till en ny miljö. Dock steg hjärtpulsen som väntat och skiljde sig signifikant från vilopulsen upp till 30 minuter efter flytten, men det fanns ingen tydlig korrelation mellan medelpuls och kortisol.</p> <p>Vid jämförelser av den långsiktiga kortisolhalten konstaterades suggornas kortisol ha en dygnsrytm, där koncentrationen var högre på morgonen än på kvällen. Vid ungefär hälften av mätningstillfällena visade sig kortisolhalten vara lägre hos sugor i burar, vilket kan tyda på kronisk stress, och man kan därmed påstå att omgivningen påverkar kortisolkoncentrationen.</p> <p>I grisskriktestet visade sig omgivningen tendera att ha en inverkan på suggans reaktion i samband med tre av fem skrik, eftersom pulsen var högre hos sugor i box. Beaktade man suggans reaktion under grisskriktestet konstaterades det att under två skrik av fem hade beteendet ett samband med hjärtfrekvensen.</p> <p>Kortisol och hjärtfrekvensen konstaterades variera under olika stressmoment suggorna utsattes för, såsom miljöombyte och en griskultings skri. Det finns möjligheter att vidareutveckla dessa metoder för att mäta stressnivån och välmående hos sugor, men det finns många variabler man bör beakta, exempelvis ålder, antal grisningar och individuella skillnader.</p>			
Avainsanat - Nyckelord - Keywords sugga, stress, kortisol, hjärtfrekvens			
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktör och ledare - Director and Supervisor(s) Anna Valros			

Innehåll

I INTRODUKTION.....	1
II LITTERATURÖVERSIKT.....	2
1 Stress hos suggan.....	2
2 Kortisol.....	3
2.1 Kortisolets fysiologi.....	3
2.2 Reglering av kortisolhalten	3
2.3 Kortisolets uppgifter.....	3
2.4 Mätning av kortisolhalten	4
2.5 Faktorer som påverkar kortisolnivån	5
2.6 Fysiologiska förändringar vid kronisk stress	7
2.7 Ny omgivning och kortisolnivå	7
3 Hjärtfrekvens	8
3.1 Hjärtfrekvensens fysiologi	8
3.2 Mätning av hjärtfrekvensen	9
3.3 Grisskriktestet	9
3.3.1 Akustiska signaler ger upphov till reaktion	9
3.3.2 Tidigare försök med grisskriktestet.....	10
4 Syftet med forskningen.....	11
III EXPERIMENTELL DEL.....	12
5 Material och metoder.....	12
5.1 Kortisolprovtagning.....	12
5.1.1 Analysering av kortisolprovena	13
5.2 Mätning av hjärtfrekvens.....	13
5.3 Flytten till grisionsburar och nya boxar	14
5.4 Grisskriktestet	14
5.5 Statistiska metoder	15
6 Resultat.....	15
6.1 Flytten	16
6.2 Den dagliga kortisolhalten	18
6.3 Grisskriktestet	20

6.4 Hjärtpulsen och beteendet	22
6.5 Hjärtpulsen och miljön	22
7 Diskussion	23
7.1 Flytten	23
7.2 Den långsiktiga kortisolkoncentrationen.....	25
7.3 Grisskriktestet	26
7.4 Slutsats	28
8 Källförteckning.....	28

I INTRODUKTION

Stress är ett normalt fenomen hos individen och en förutsättning för inlärning samt utveckling. När ett djur av olika anledningar inte kan anpassa sig till en förändring uppstår stressrelaterade beteendeförändringar hos djuret (Rietmann m.fl. 2004). Hos svin är det vanligt att de utsätts för stress (de Jong m.fl. 2000b) och det finns ett intresse att utveckla metoder för att kunna mäta mängden stress ett djur upplever med tanke på välmåendet (Düppjan m.fl. 2008). Det är konstaterat att social stress, som ofta förekommer på stora svingårdar, påverkar produktionen negativt (de Jong m.fl. 2000a) eftersom den kan hämma viktökningen men också påverka olika cellegenskaper såsom lymfocytproduktion, neutrofilkemotaxis och immunitet mot virus (Couret m.fl. 2009). Också fodret som ges åt suggan samt miljön den lever i kan ha negativa följder såsom sämre hälsa och välmående (Couret m.fl. 2009).

Hos en dräktig sugga som utsätts för stress är det inte ovanligt att utvecklingen hos embryot eller fostret hämmas (Couret m.fl. 2009). Eftersom suggan är ett djur som föder flera ungar kan ett lågt antal griskultingar som föds vara ett tecken på stress hos modern. Bakgrunden till dessa förändringar antas ligga i förändringar i saggans immunförsvar samt i förändringar i den neuroendokrina aktiviteten, till vilket glukokortikoider och kortisol hör (Couret m.fl. 2009).

Tanken med det här försöket är att undersöka ifall det genom att mäta kortisolhalten samt hjärtfrekvensen är möjligt att mäta stressnivån hos en sugga. Hypotesen är att kroppen reagerar på stress både kort- och långsiktigt. På kort sikt stiger kortisolnivån vid stress medan kortisolnivån rentav kan sjunka vid kroniska situationer (Valros m.fl. 2013). Hjärtfrekvensen antas stiga temporärt när en sugga försätts in i en ny stressfylld situation, såsom i ett grisskriktest eller en ny miljö.

II LITTERATURÖVERSIKT

1 Stress hos suggan

En respons på stress är svår att mäta och definiera, eftersom den innefattar beteendemässiga samt fysiologiska system, såsom det kardiovaskulära och neuroendokrina systemet (Rietmann m.fl. 2004). Man har i tidigare försök använt sig av ett flertal olika fysiologiska metoder för att mäta stress, såsom mätning av stresshormoner, bioakustiska parametrar, biokemiska blodparametrar och hjärtfrekvensen (Mohr m.fl. 2002). Stress ger sig uttryck i soggans liv på olika sätt. Bland annat bobyggningen och grisningen utlöser stress och ger upphov till förhöjda nivåer av kortisol (Thodberg m.fl. 2002) som är ett steroidhormon (Sjaastad m.fl. 2010). Kortisolnivåerna återgår till individens normala nivåer efter grisningen (Thodberg m.fl. 2002). Också stressfyllda och rentav aggressionsutlösande situationer såsom omgruppering av svin förhöjer kortisolnivån (Anil m.fl. 2006).

Det finns ett antal olika typer av inkvartering av svin som används inom modern svinindustri, och i Europa är det grisningsburar och boxar som används mest (Oliviero m.fl. 2008). Kortisolhalten har visat sig vara betydligt högre hos fixerade soggor än hos lösdriftssoggor, vilket är ett tecken på kronisk aktivitet hos den hypotalamus-hypofys-adrenala axeln (HPA-axeln) (Janssens m.fl. 1994). Det är bevisat att svin som fixeras i exempelvis grisningsburar känner att de förlorar kontrollen över omgivningen i och med att de inte kan röra på sig som de vill, och kan utveckla symptom för kronisk stress, såsom reproduktiva och kardiovaskulära störningar samt beteendestörningar (Janssens m.fl. 1995). Stereotyper, såsom vakuumtuggande, har i en studie (Arey m.fl. 1996) påträffas endast hos soggor i grisningsburar i jämförelse med lösdrifter (Arey m.fl. 1996). Det är också visat att det under tiden före grisningen oftare och under en längre tid förekommer stångbitning hos soggor i burar jämfört med soggor i boxar som innehåller öppen grisningsbur (Yun m.fl. 2015) och dessutom är varaktigheten för grisningen längre hos soggor i bur än soggor i boxar (Oliviero m.fl. 2007). Det är också visat att visuell och

fysisk isolering från andra svin medverkar till uppkomsten av kronisk stress (Janssens m.fl. 1994).

2 Kortisol

2.1 Kortisolets fysiologi

När ett svin utsätts för stress aktiveras HPA-axeln som leder till att binjurarna utsöndrar glukokortikoider och främst kortisol, som är den viktigaste glukokortikoiden hos de flesta däggdjur (Sjaastad m.fl. 2010). Kortisolet har en lipofil molekylärstruktur och binds i blodet till ett kortisolbindande globulin (Sjaastad m.fl. 2010) som genom diffusion genom cellmembranet kan binda till ett receptorkomplex. Kortisol-receptorkomplexet tar sig in till kärnan, binder till DNA-sekvenser och påverkar därmed den genetiska transkriptionen som ger upphov till diverse förändringar i kroppen (Sjaastad m.fl. 2010). Den hormonella variationen i utsöndringen har, likt de flesta andra fysiologiska processer, ett rytmiskt mönster som utvecklas gradvis när individen mognar till en vuxen individ och är fullständig vid tidpunkten för den första estrusen (Evans m.fl. 1988).

2.2 Reglering av kortisolhalten

Det kortikotropinfrisättande hormonet som utsöndras ur hypotalamus stimulerar utsöndringen av adrenokortikotropiskt hormon (ACTH) från den främre loben i hypofysen, som vidare stimulerar binjurebarken att utsöndra kortisol. Via kortisolets negativa återkoppling hämmas utsöndringen av respektive hormon hos både hypotalamus samt hypofysen (Sjaastad m.fl. 2010).

2.3 Kortisolets uppgifter

Kortisolet har ett flertal uppgifter i kroppen (Sjaastad m.fl. 2010). Till exempel bör kortisol vara närvarande för att hormoner såsom katekolaminer och glukagon ska kunna fungera normalt. Vid tillstånd av höga koncentrationer stimulerar kortisolet dessutom nedbrytningen av fett och proteiner och som ett resultat av detta frigörs mer fettsyror i

blodet. Därtill inhiberar kortisolet DNA-syntes i olika vävnader, vilket leder till att en hämning av tillväxt sker i samband med proteinnedbrytningen. Det här sker dock vid tillstånd där kortisolhalten varit hög en längre tid (Sjaastad m.fl. 2010). Också i immunförsvaret är kortisolet av betydelse. När inflammationer från infektioner eller vävnadsskador uppstår, kan kortisolet inverka på immunsystemet på flera olika sätt, exempelvis genom att hämma inflammationsresponsen genom immunosuppression (Sjaastad m.fl. 2010). Vid slutet av dräktigheten hos de flesta husdjur har kortisolet som uppgift att starta födseln genom en förhöjd koncentration som härstammar från att fostrets hypofys utsöndrar ACTH som ett resultat av stress. Stressfaktorerna tros vara exempelvis brist på utrymme (Sjaastad m.fl. 2010).

2.4 Mätning av kortisolhalten

Kortisolhalten kan mätas i blod, saliv, avföring (Schmidt m.fl. 2010a) samt päls (Bacci m.fl. 2014). Salivprov har visat sig vara en effektiv metod eftersom det varken krävs att man binder fast djuret eller förorsakar smärta (Ekkel m.fl. 1996). Salivens kortisol diffunderar från blodet till saliven (Janczarek m.fl. 2013), representerar den plasmafria koncentrationen och står för mellan 5 och 10 % av koncentrationen i plasma (Ruis m.fl. 1997). Kortisol i plasma är i hög grad bundet till bärarproteiner medan salivens kortisol är obundet (Schmidt m.fl. 2010b). Både vid kort- och långvarig förvaring av salivprov har kortikosteroidernas stabilitet visat sig vara ypperlig (Ekkel m.fl. 1996).

En akut förändring i kortisolhalten ger sig uttryck i plasma och saliven, medan mätning av kortisolmetabolithalten i avföringen används när man vill kartlägga förekomsten av kroniska stress-situationer (Schmidt m.fl. 2010b). Ofta krävs en stressfaktor som pågår under en längre period för att man ska nå upp till de statistiskt betydelsefulla värdena i metabolitkoncentrationerna. Eftersom kortisolhalten i salivutsöndringen påverkas av mindre stressmoment är saliven ett mer finkänsligt sätt mäta övergångar och mindre förändringar i kortisolhalten till skillnad från mätning av kortisolmetaboliter i avföringen (Schmidt m.fl. 2010b).

Päls som indikator för förändringar i kortisolhaltskoncentrationer har studerats hos nöt (Burnett m.fl. 2015) och metoden är snabb att utföra och är dessutom noninvasiv. Päls kan användas för att kartlägga kroniska förändringar i hälsan och ger därmed ingen information om kortvariga förändringar i kortisolhalten (Burnett m.fl. 2015). Därtill är det svårt att veta den exakta tidpunkten för kortisolförändringen, som kan innebära att förhöjningen av kortisolnivån uppstår mellan en och två månader efter stressmomentet (Bacci m.fl. 2014). I studien som Burnett m.fl. (2015) utförde analyserade man kortisolhalten i päls och man kunde konstatera en tydlig skillnad mellan friska samt kliniskt sjuka lakterande mjölkkor (Burnett m.fl. 2015).

2.5 Faktorer som påverkar kortisolnivån

Faktorerna som påverkar kortisolkoncentrationen är många. Enligt studier har åldern en inverkan på kortisolrytmen, där amplituden minskar med åldern (Ruis m.fl. 1997). Könets påverkan har man endast kunnat påvisa vid mätning av MESOR-värdet (Midline-Estimating Statistic of Rhythm), som visade sig vara högre hos galtar än gyltor (Ruis m.fl. 1997). Dessutom antas vikten ha ett samband med kortisolhalten (Hillmann m.fl. 2008). Det har också diskuterats huruvida svin kan ha en tendens att lära sig att förutse vilka tider utfodringen sker, vilket kan ge upphov till en topp i kortisolhalten några timmar före utfodringen (Hillmann m.fl. 2008).

Svinets omgivning har också tagits i beaktande i forskningen. Omgivningens temperatur ger enligt studier (Hillmann m.fl. 2008) inte upphov till några förändringar i kortisolmönstret, varken genom att sänka på basalkoncentrationen eller utjämna nivåskillnaderna. Avsikten med detta försök var att se hur HPA-axeln reagerar på temperatursänkningar (Hillmann m.fl. 2008). Huruvida omgivningen är berikad eller inte har under svins uppväxt noterats ge upphov till variation i kortisolrytmen (de Jong m.fl. 2000a). Vid en ålder på 15 veckor kan skillnader mellan dessa två grupper upptäckas. Svin som växt upp i en karg miljö hade efter den här tidpunkten en betydligt lägre kortisolnivå under förmiddagen i jämförelse med svin som växt upp i den berikade miljön (de Jong m.fl. 2000a). Också tidpunkten för stressmomentet påverkar kortisolnivån

respons, när förändringen i kortisolkoncentrationen är lägre på förmiddagen eftersom basalkoncentrationen ursprungligen är högre vid den tidpunkten (Ruis m.fl. 1997).

Jarvis m.fl. (1998) visar att omgivningen i sig inte har någon påverkan på kortisolhaltsförändringar under grisningen, men det är konstaterat att kortisolhalten stiger under grisningsperioden. En faktor som kan vara orsak till en högre stimulering av HPA-axeln är exempelvis en stor griskull, vilket har ett samband med att ju fler griskultingar som stimulerar suggans juver, desto högre kortisolkoncentration har suggan. Huruvida detta har en anknytning med stressinducering eller metabolisk effekt är oklart (Jarvis m.fl. 1998). Vid grisningen hos suggor i burar utan bädd är oxytocinet i blodet lägre i jämförelse med suggor i boxar, och bidrar därmed till att kortisolhalten hålls på en hög nivå under en längre tid (Oliviero m.fl. 2008).

Eftersom svinets kortisolkoncentration varierar enligt dygnsrytmen bör man vid studier av hormonella förändringar som respons på stress ta detta i beaktande vid mätningarna. Oftast når blodets kortisolkoncentration sin kulmen på morgonen och avtar mot kvällen. Däremot visar en studie att en topp dessutom nås förutom under förmiddagen också på eftermiddagen (Ruis m.fl. 1997). Orsaken till det här tros vara glukoneogenesen som höjs under långa fasteperioder mellan utfodringarna (Hillmann m.fl. 2008). Det är alltså oklart huruvida utfodringstiderna påverkar kortisolrytmen och det rekommenderas att man vid försök använder sig av utfodring enligt ad libitum, alltså under slumpmässiga tider på dygnet (Hillmann m.fl. 2008).

Vid användning av bl.a. blod- och salivprov för fastställande av kortisolhalten bör man ta hänsyn till att vissa arter har en kortisolrytm som förutom den dagliga rytmen följer en årstidsrytm. Till dessa arter hör människa, får, get, häst, ekorre samt vild kronhjort (Bacci m.fl. 2014). En studie (Bacci m.fl. 2014) visar att suggans kortisolkoncentration under sommarmånaderna är betydligt lägre än under vintermånaderna, oberoende av fortplantningsfas (Bacci m.fl. 2014). Kortikosteroidkoncentrationen förändras vid frånvaro av yttre stimuli och kortikosteroiderna reagerar olika på en stress-situation beroende på vilken fas i rytmen individen befinner sig i (Eckel m.fl. 1996).

2.6 Fysiologiska förändringar vid kronisk stress

Kronisk stress kan ge upphov till förändringar i regleringen av den hypotalamus-hypofys-adrenala axeln (Janssens m.fl. 1995). Hos suggor har man lagt märke till att de individer som befinner sig lågt i rang har en låg kortisolnivå, vilket är ett tecken på en förlust av regleringen av HPA-axeln. Därmed kan kronisk stress också ge upphov till hypokortisolism (Verdon m.fl. 2016). Hästar som uppvisat deprimerat beteende har också visat sig ha lägre kortisolkoncentration i blodplasma i förhållande till kontrollindividerna (Fureix m.fl. 2012).

2.7 Ny omgivning och kortisolnivå

I ett försök där dräktiga suggor utsattes för social stress genom omgruppering av suggorna var kortisolkoncentrationerna höga upp till tre dagar efter omgrupperingen (Couret m.fl. 2009). Oliviero m.fl. (2008) mätte kortisolhalten hos suggor som förflyttades till burar och boxar från lösdrift och mätte kortisolnivån med salivprov fyra gånger per dag före, under och efter grisningen. Grisningsintervallet för suggorna i grisningsburar var i genomsnitt 93 min längre än de i boxar, och kortisolresultaten visade att kurvan under grisningsdagen hade en likartad topp för de båda grupperna, medan det under de följande dagarna visade sig att kortisolhalten för suggorna i boxar sjönk i snabbare takt än för de i burar. Under förlossningen är kortisolhalten naturligt högre, men grisningarna i burar kan ha gett upphov till ett stressmoment som gjorde att kortisolhalten hölls på en högre nivå en längre tid (Oliviero m.fl. 2008)

I en studie som Parrott m.fl. (1998) utfört har man mätt hjärtfrekvensen samt kortisolnivån under en transport av får. Kortisolproven togs via kateter och mättes före och under hela transporten. Kortisolkoncentrationerna steg väsentligt över basalkoncentrationen. Nivåerna hölls på en hög nivå under ca 2 h vilket tyder på en respons till stressmomentet. Angående den kardiovaskulära responsen steg hjärtfrekvenserna under transporten i jämförelse med frekvensen hemma i stallet (Parrott m.fl. 1998). Ett liknande försök utfördes av Broom m.fl. (1996) där kortisolnivån konstaterades stiga 350 % vid lastningen, och även om kortisolhalten sjunkit till stor del

efter 180 minuter kunde man konstatera att kortisolutsöndringen stimulerades under hela transporten vars längd var 15 h. Någon långsiktig effekt på hormonutsöndring kunde man likväl inte notera (Broom m.fl. 1996).

I en studie med transport av hästar (Schmidt m.fl. 2010a), där stressmomentet upprepades med fyra och två dagars mellanrum, har man kunnat konstatera att en upprepad transport gav en allt lägre utsöndring av kortisol för varje gång transporten genomfördes. Dock blev anpassningen av stress-situationen inte fullständig utan en ökning av den salivära kortisolnivån kunde upptäckas i alla transporter. Eftersom kortisolproven togs på morgonen när den basala kortisolkoncentrationen är som högst, kan man anta att höjningarna av kortisolhalten senare under dagen inte berodde på den dagliga kortisolrytmen. Också i mätningar av den fekala kortisolutsöndringen kunde liknande observationer konstateras, eftersom en höjning av kortisolhalten endast var upptäckbar efter den första transporten (Schmidt m.fl. 2010a).

3 Hjärtfrekvens

3.1 Hjärtfrekvensens fysiologi

Ett hjärtas slagfrekvens bestäms utgående från det autonomiska nervsystemet, som fungerar tillsammans med det sympatiska samt parasympatiska nervsystemet. Slagfrekvensen ökar vid tillstånd där kroppen reagerar på ett verkligt eller underförstått hot, som kan vara psykologiskt eller fysiologiskt (Rietmann m.fl. 2004). Det har till exempel visats att social stress, såsom en kamp om föda eller etablerandet av den sociala hierarkin, har en höjande effekt på hjärtfrekvensen (de Jong m.fl. 2000b). En långvarig stimulering av det sympatiska nervsystemet har enligt studier visat sig vara skadligt för individen (Rietmann m.fl. 2004) och som resultat av olika stressmoment ökar aktiveringen av det sympatiska nervsystemet som vidare ger upphov till en ökning av hjärtfrekvensen (Düppjan m.fl. 2011).

3.2 Mätning av hjärtfrekvensen

Mätning av hjärtfrekvensen kan fungera som ett redskap för att mäta kortsiktiga förändringar hos djuret, såsom i olika stressfyllda situationer (Mohr m.fl. 2002). Däremot ger metoden inte data för att fastställa de långsiktiga effekterna av ett stressmoment. Förutom mätning av själva hjärtfrekvensen, som hos svin normalt ligger kring 60–80 slag/minut, kan man också använda sig av mätning av hjärtfrekvensvariationen, vilket betyder att man iakttar den temporära distansen mellan hjärtslagen som kontinuerligt förändras. Hjärtfrekvensvariationen kan ge en bild av hurudan balansen mellan vagustonusen samt den sympatiska tonusen är (Mohr m.fl. 2002). Hos hästar och kalvar anses hjärtfrekvensvariationen minska vid tillstånd av stress (Schmidt m.fl. 2010c).

En metod man använt sig av hos häst (Schmidt m.fl. 2009b) är mätning av förändringar i hjärtfrekvensen vid stressfyllda tillfällen, i detta fall under transport. Hjärtfrekvensen steg märkbart vid transportens början som ett resultat av ökad sympatisk aktivitet och sjönk i viss mån under resan tills hästarna fick återvända till sina stall. Att hjärtfrekvensen sjönk berodde på den sjunkande vagustonusen när hästarna anpassade sig till situationen (Schmidt m.fl. 2010b).

3.3 Grisskriktestet

3.3.1 Akustiska signaler ger upphov till reaktion

På den individuella nivån reflekterar känslor tillståndet hos ett djur och djur har konstaterats kunna visa ett flertal känslor. I form av akustiska signaler kan djuret förmedla känslor av bland annat upphetsning, motivationsstatus samt fysiska egenskaper (Düpjan m.fl. 2008). En griskultings skrik är en respons på nöd och exempelvis när den hamnar i kläm ger den omedelbart ifrån sig ett alarmerande skri (Illmann m.fl. 2008). Det har gjorts forskning på hur stor del av avlidna levandefödda griskultingar dött på grund av att de krossats av modern, och den andelen når drygt hälften (Wechsler m.fl. 1997). Det är konstaterat att suggor som reagerar starkare på en griskultings skri har lägre mortalitet i kullen än en sugga som är mindre känslig (Illmann m.fl. 2008).

3.3.2 Tidigare försök med grisskriktest

Ett grisskriktest är ett försök som baserar sig på suggans reaktion på en griskultings skri (Wechsler & Hegglin 1997). Thodberg m.fl. (2002) utförde ett grisskriktest där man använde sig av inspelade skrin, som spelades upp när en sugga var på väg att lägga sig ner. Det här gjordes för att simulera situationen av en griskulting som hamnar i kläm under modern. I resultaten kan man notera att de suggor som var som inaktivast 24 h efter grisningen, reagerade snabbast på det inspelade ljudet. Dessutom reagerade suggor, som befann sig i grisionsboxar med möjlighet för suggan att lämna området där griskultingarna befann sig, snabbare än de suggor som befann sig i vanliga grisionsburar (Thodberg m.fl. 2002).

Chaloupková (2008) har utfört liknande försök inom de 24 första timmarna efter grisningen. Som mätningssmetod användes hur mycket suggan reagerar på den egna griskultingens skri med sitt kroppsspråk. Dessutom använde man sig av ett inspelat skrik under två tidpunkter upp till ett dygn efter födseln. Det konstaterades att i det försök där man använt sig av de egna griskultingarna reagerade suggan i 80 % av situationerna medan resultatet för de inspelade ljuden var betydligt lägre (Chaloupková m.fl. 2008).

I de flesta fall har man använt sig av ett grisskriktest för att få information huruvida suggans reaktionsförmåga och beteende korrelerar med mortaliteten i kullen (Wechsler & Hegglin 1997). Det man bör ta i beaktande när man utför och analyserar resultatet av ett grisskriktest är att det är svårt att utföra ett standardiserat test, eftersom faktorerna som påverkar resultatet är många. Använder man sig av inspelade ljud kan det påverka resultatet ifall griskultingen på inspelningen är av annan ålder än de kultingar vars moder testas (Held m.fl. 2007). Illmann m.fl. (2008) noterade att suggorna reagerade upp till fyra gånger starkare på ett inspelat ljud än på de skrin de egna griskultingarna gav ifrån sig direkt efter födseln (Illmann m.fl. 2008). Dessutom kan suggornas åldrar sinsemellan samt vilken dag efter grisningen testet äger rum spela roll (Held m.fl. 2007), men Illmann m.fl. konstaterade att reaktionerna under olika tidpunkter inom det första dygnet efter födseln inte förändras (Illmann m.fl. 2008).

I grisskriktestet har man tidigare använt sig av metoder där man utgående från suggans kroppsspråk poängsätter suggans reaktion till skriken. Held m.fl. (2007) använde sig av en poängskala från 0–8 där 0 representerade ingen synlig reaktion alls, t.ex. 4 stod för att suggan sätter sig upp medan en sugga som fått 8 poäng hade fysisk kontakt med högtalaren där ljudet kom ifrån (Held m.fl. 2007). Illman m.fl. (2008) använde sig av en metod där man mätte antalet sekunder tills suggan visade ett första tecken på respons när en griskultings skri spelades upp (Illmann m.fl. 2008).

Resultaten man fått i försök med grisskriktest är varierande. Det finns teorier om att suggans reaktioner på ett skri är ärftligt, och behöver nödvändigtvis inte basera sig på tidigare erfarenheter (Wechsler & Hegglin 1996). Det har konstaterats att suggor i lösdrift, där ett antal suggor lever i samma box, reagerar starkare på grisskriktest än suggor i grisningsburar, vilket tyder på att omgivningen kan ha betydelse för suggornas beteende (Arey m.fl. 1996).

4 Syftet med forskningen

Målet med försöket är att utveckla metoder med vilka man kan mäta välmående hos suggor fixerade i grisningsburar respektive suggor som inte är det utgående från kortisolhalten och hjärtfrekvensen. Försöket går ut på att utsätta suggorna för stress; ett grisskriktest och förflyttning till en ny miljö, och mäta de fysiologiska förändringarna som stressen ger upphov till med en pulsmätare och salivprov. Kortisolhalten mäts långsiktigt samt kortsiktigt i samband med en flytt till en ny miljö, medan pulsen mäts under flytten samt under grisskriktestet. Både kortisolhalten och hjärtfrekvensen antas stiga kortsiktigt vid stressmomentet.

III EXPERIMENTELL DEL

5 Material och metoder

Försöket utfördes 24.5–2.7 2015 på Foulum Research Center, Århus Universitet, Foulum, Danmark. Till försöket hörde 14 dräktiga suggor av rasen Yorkshire som grisat 2–6 gånger. Alla suggor hölls i boxar under D-10–D-8 (D0=dag för beräknad grisning), och på D-7 förflyttades tio på förhand slumpmässigt utvalda suggor till grisionsburar och de fyra övriga suggorna förflyttades till nya boxar i en annan avdelning. Vid D24 förflyttades fem av suggorna och deras griskultingar i grisionsburar till boxar i en annan avdelning.

I alla avdelningar var lamporna tända från kl 06:00 till 18:00 förutom under tidpunkten för grisningen, när lamporna var tända dygnet runt. Boxarna hade måtten 2,20 m x 2,98 m, och de grisionsburar som användes befann sig i boxar med måtten 2,68 m x 1,78 m. Grisionsburarna hade bredden 70 cm. Varje box var utrustad med ett bo för griskultingarna, som i boxarna samt i fem av grisionsburarna var försedda med en traditionell värmelampa. De övriga fem grisionsburarna var försedda med en eHeat-lampa (Animal care ApS, Tjele). Suggorna matades tre gånger om dygnet; kl. 08:00, 16:00 samt 21:00 och hade fri tillgång till vatten.

5.1 Kortisolprovtagning

Under följande dagar togs salivprov på suggorna; D-9, D-7, D-5, D-3, D-1 samt efter grisningen D4, D14, D26. Under varje provtagningsdag togs salivprov klockan 05:30 före lamporna tändes, samt klockan 17:00. Vid förflyttningen av suggorna till grisionsburar och nya boxar togs ett salivprov före flytten innan pulsbältena lades på (se nedan) samt 15, 30 och 45 minuter efter att flytten avslutats. Till provtagningen användes en bomullssvabb (Salivette®, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht) som med pincett fördes in i suggans mun. Svabben tuggades på i 30–60 sekunder med målet att få en salivmängd på 1 ml. Före de egentliga försöken tränades suggorna i att ge salivprov och det fanns inget

behov att behöva fixera suggorna inför provtagningen. Provrören förvarades i en kylåda varefter proven centrifugerades i en centrifug (Sigma® 301, Struers). Saliven pipetterades och frystes ner i -20° C för vidare analysering.

5.1.1 Analysering av kortisolproverna

Kortisolhalten i dubletter av salivproverna analyserades med ett radioimmunoanalyseringskit (ImmuChem™ CT cortisol kit, MP Biomedicals, Orangeburg, NY, USA) genom att använda en modifierad RIA-metod för saliv. En kalibreringskurva med värden från 0,5 ng/ml till 50 ng/ml utformades genom att späda ut den högsta kalibratoren i kitet med fosfat-buffrat salin (pH 7,5). En volym på 200 µl av varje salivprov samt den utspädda kalibratoren tillsattes i antikroppsbeklädda tuber med 1 ml 125I-märkt kortisollösning och inkuberades i 37°C i 45 minuter. Tubernas innehåll räknades i en gammareäknare. Parallellismen mellan outspätt salivprov och 4-falt utspädda salivprov var 99 %. Gränsen för kortisolhalten som identifierades i kortisolanalysen var 0,5 ng/ml.

5.2 Mätning av hjärtfrekvensen

Vid mätning av hjärtfrekvensen använde vi oss av elektrodvärtan av modellerna Polar Equine Electrode Base och Polar Equine Belt samt pulsklockor av modellerna Polar RS800CX och Polar A300. För att förbättra mottagningen av pulsen användes biogel som ströks på elektroderna. Värtan kopplades fast runt suggan så att den positiva elektroden placerades vid hjärtats höjd på vänstra sidan, medan den negativa ungefär 25 cm lodrätt ovanför på mitten av thorax. Ett par dagar innan mätningarna tränades suggorna i att bära värtan. Värtan lades på suggan åtminstone 5 minuter före flytten, så att skillnader i hjärtfrekvensen inte skulle bero på att suggan blivit uppjagad av den nya situationen med värtan.

5.3 Flytten till grisningsburar och nya boxar

Elektroderna fixerades i ett brett elastiskt bälte som lades fast på suggan före flytten. Pulslockorna startades i god tid och hjärtfrekvenssignalen kontrollerades. Tiden för när flytten startade skrevs upp och suggan flyttades från boxen till grisningsburen i ett annat rum. Avståndet var max 30 meter och en skiva för att underlätta fösningen användes endast vid behov. När flytten var över antecknades klockslaget. Pulslockan fortsatte att spela in hjärtfrekvensen i minst 45 minuter efter att flytten var avslutad.

Datat analyserades i ett dataprogram utvecklat av Polar för träningsuppföljning av häst. Hjärtfrekvenskurvan redigerades med funktionen *Error correction* som eliminerade fysiologiskt avvikande värden. Värden som manuellt plockades ut för varje sugga var medeltalet av samt maximala hjärtfrekvensen för 5-minutsintervall före flytten, under flytten samt upp till 45 minuter efter att flytten avslutats.

5.4 Grisskriktestet

Grisskriktestet utfördes en gång per sugga fyra till sex dagar efter grisning och alltid max två suggor per avdelning och dag. Elektrodbältet fästes på suggan och testet startades inte före suggan antogs ha lugnat ner sig från den nya situationen med bälte. Pulslockan startades och hjärtfrekvenssignalen noterades. Testet ägde rum i samband med vägningen av griskultingarna och gick ut på att en av suggans griskultingar lyftes upp ur boxen och när kultingen skrek antecknades tidpunkten. Detta upprepades fem gånger med ca 30 sekunders mellanrum med fem olika griskultingar.

Hjärtfrekvensdatat redigerades med funktionen *Error correction* och för varje enskilt skrikintervall, med start från att skriket startade och 20 sekunder framåt, räknades medelhjärtfrekvensen ut med dataprogrammet. En vilopuls fastställdes åt varje sugga genom att räkna ut medelhjärtfrekvensen för en tid just före, eller en lång tid efter att skriktestet avslutats, där hjärtfrekvensen ansågs vara låg och jämn.

Utgående från videoinspelningar av grisskriktestet bedömdes varje sugga enligt hur de reagerade med sitt kroppsspråk under testet. Bedömningsskalan var 0-2, där 0=ingen synlig reaktion, 1=liten reaktion, t.ex. rörelse med huvudet och 2=tydlig reaktion; är rastlös, ställer sig upp och stå, upprepade rörelser med huvudet osv. Dessa data användes vid jämförelser med pulsen för att notera eventuella korrelationer mellan beteende och hjärtpuls.

5.5 Statistiska metoder

Statistikprogrammet IBM SPSS Statistics 22 användes för de statistiska analyserna medan kalkylprogrammet Microsoft Excel 2007 användes för att sammanställa tabeller. Vi använde Shapiro-Wilk-testet för att undersöka normaliteten och genom att kontrollera histogrammen hos både hjärtpulserna samt kortisolhalterna. Vi använde oss av parvis T-test för att jämföra pulsvärdena under och efter flytten med vilopulsen, samt för kortisolvärden efter flytten med värden innan flytten. Vid undersökning av korrelation mellan medelpuls och kortisol efterflytten användes Pearson korrelation.

Vid undersökning av den långsiktiga kortisolhalten visade sig variablerna inte vara normalfördelade, så det non-parametriska testet Independent Mann-Whitney U-testet användes för att undersöka hur miljön, det vill säga burar och boxar, påverkar kortisolkoncentrationen under den tid försöket pågick.

Vid grisskriktestet användes parvis T-test för att räkna ut vilka tidsintervall som avvek signifikant från vilopulsen. ANOVA-test användes för att kalkylera hur stort samband beteende (reaktionsnivå vid testet) samt miljö (box, bur) har med pulsen.

6 Resultat

6.1 Flytten

Vid flytten steg hjärtpulsen som väntat. Vilopulsen hade ett medeltal på 94 slag/minut. En signifikant förändring från vilopulsen kan konstateras upp till 30 minuter efter flytten (se bild 1). I bild 2 kan medeltalet för de maximala pulserna under flytten utläsas. Dessa skillnader i pulsen testades inte statistiskt, eftersom max-värdet har en större variation och inte är lika pålitligt som medelvärdet.

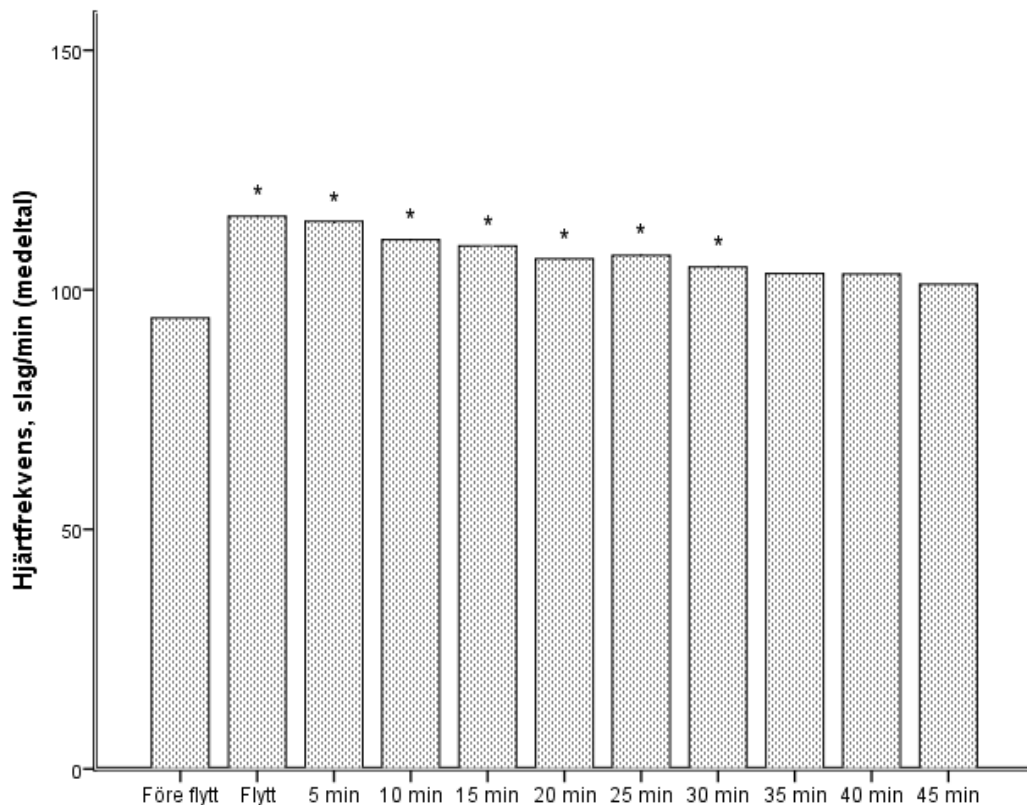


Bild 1. Medeltalet för pulsen vid samtliga tidpunkter före, under och efter flytten. De värden som är märkta med asterix (*) skiljer sig signifikant ($p < 0,05$) från vilopulsen före flytten.

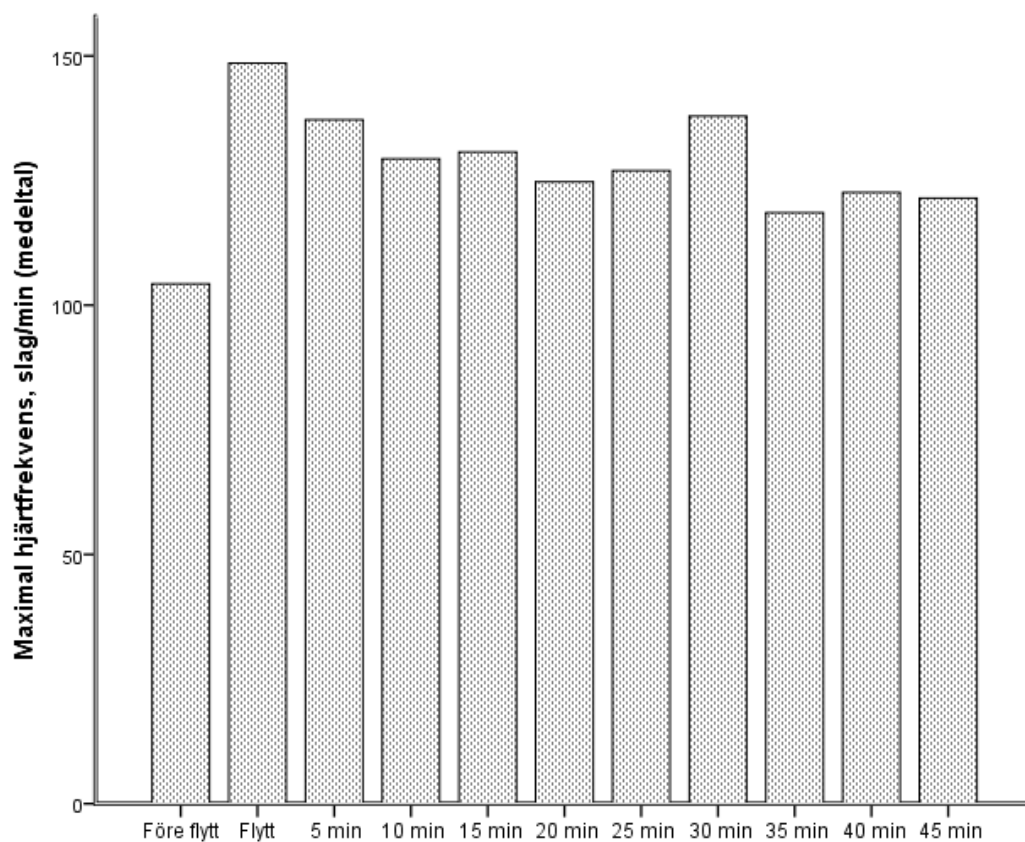


Bild 2. Medeltalet för den maximala pulsen vid samtliga tidpunkter före, under och efter flytten.

I resultatet för kortisol (bild 3) skiljer sig kortisolhalten signifikant vid två mätningstillfällen. Kortisolhalten sjunker efter flytten i jämförelse med halten före flytten. Det fanns ingen tydlig korrelation mellan medelpuls och kortisol efter flytten, medan kortisolets basalkoncentration, som mättes före flytten, hade tendens att korrelera negativt med pulsen fr.o.m. 10 minuter efter flytten ($r=-0,327$ – $-0,607$, $p=0,025$ – $0,072$).

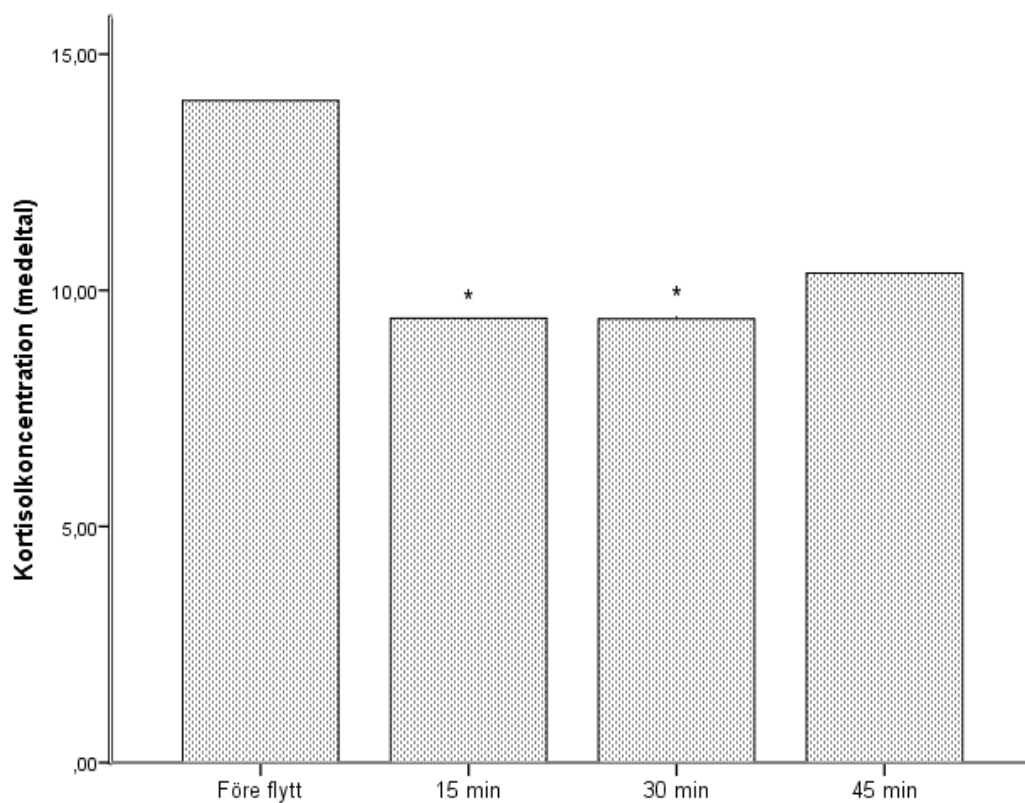


Bild 3. Kortisolkoncentrationen före samt vid samtliga tidpunkter efter flytten. Värden märkta med asterix (*) skiljer sig signifikant från koncentrationen före flytten ($p < 0,05$).

6.2 Den dagliga kortisolhalten

Resultatet för basalkortisolet är presenterat i bild 4 och 5, där kortisolhalten som väntat är högre på morgonen än på kvällen, samt drastiskt stiger efter grisningen. Medianen för kortisolkoncentrationerna finns presenterade i tabell 1.

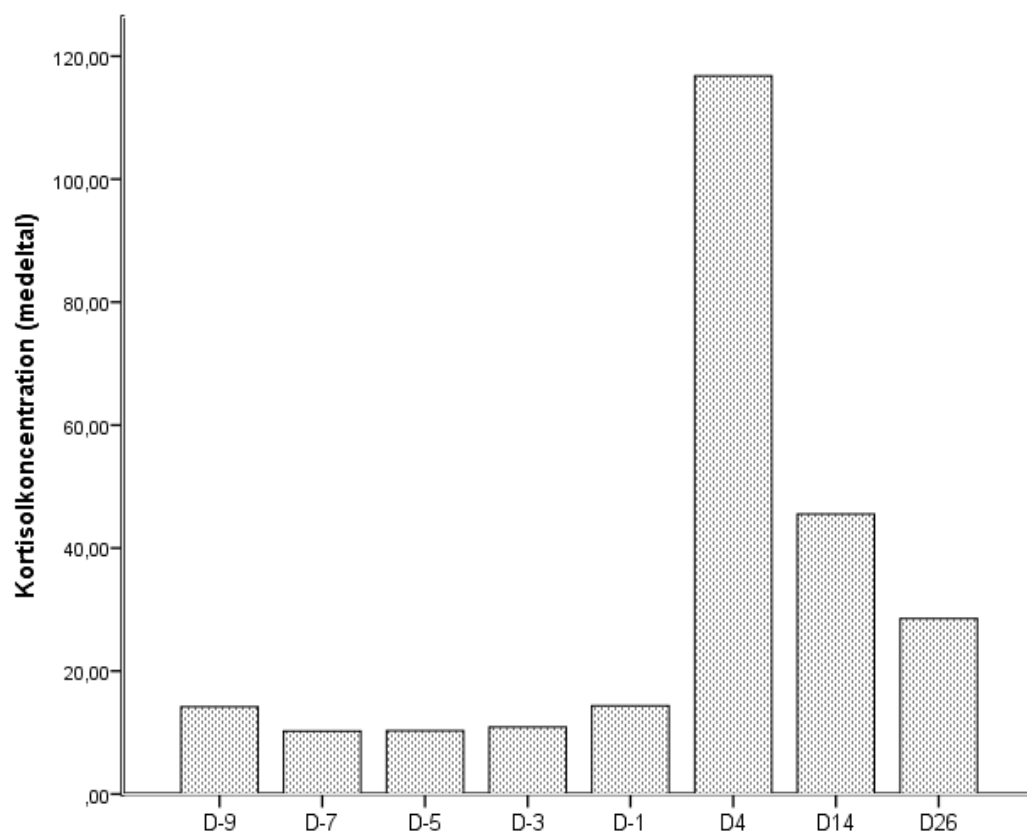


Bild 4. Kortisolkoncentrationen på morgonen. D0=dag för beräknad grisning

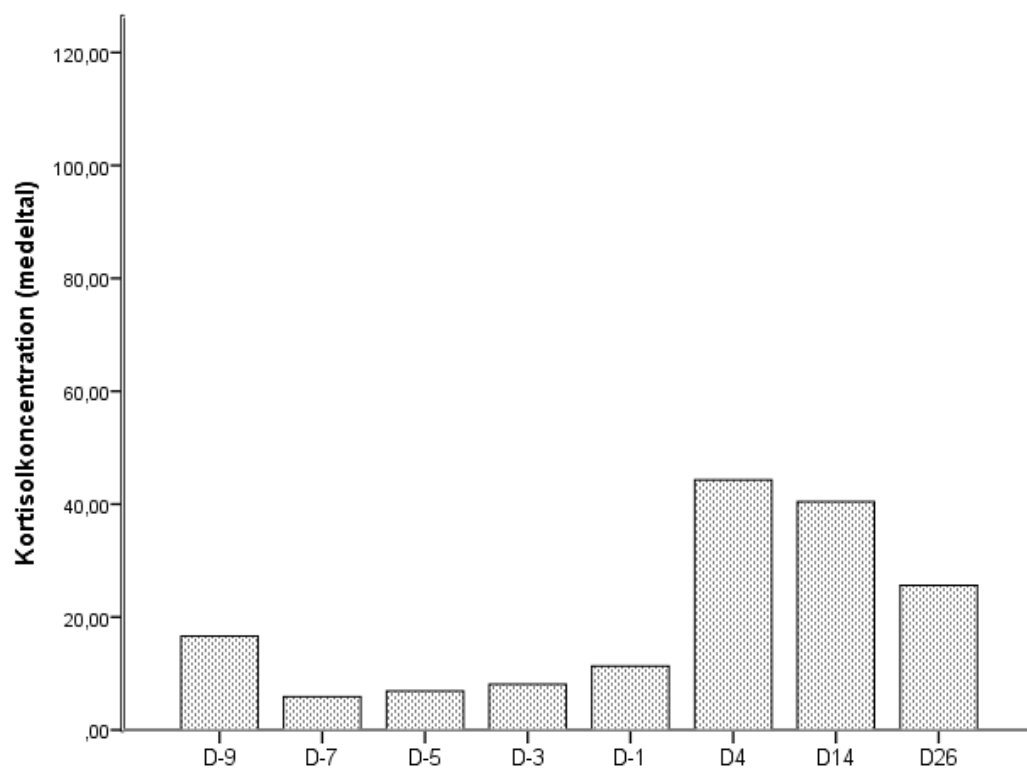


Bild 5. Kortisolkoncentrationen på kvällen. D0=dag för beräknad grisning

Tabell 1. Resultat för Mann-Whitney U-testet (nonparametriskt). Medianen för kortisolkoncentrationen för respektive dag och minimum- samt maximumvärden är utskrivna inom parentes. Värden utmärkta med asterix (*) skiljer sig signifikant och visar att omgivningen påverkar kortisolkoncentrationen. Förkortningar: fm=förmiddag, em=eftermiddag.

Dag	Box-bur (N=10)(min-max)	Box-box (N=4)(min-max)	P	
D-9 fm	9,94 (5,86–26,58)	13,91 (11,37–40,19)	0,188	
D-9 em	11,35 (3,47–69,32)	15,69 (9,95–31,21)	0,304	
D-7 fm	8,31 (5,45–13,56)	13,865 (10,13–17,83)	0,014*	
D-7 em	4,085 (1,62–5,16)	12,01 (6,66–13,38)	0,002*	
D-5 fm	8,03 (4,69–16,51)	15,43 (9,40–18,01)	0,014*	
D-5 em	3,58 (0,49–6,83)	14,22 (4,22–27,81)	0,036*	
D-3 fm	9,66 (4,85–16,20)	12,74 (8,96–20,37)	0,240	
D-3 em	5,31 (1,32–9,28)	12,02 (7,03–30,95)	0,008*	
D-1 fm	9,5 (7,41–19,84)	24,19 (14,08–32,98)	0,008*	
D-1 em	7 (3,20–13,98)	17,44 (10,21–38,91)	0,014*	
D4 fm	107,85 (37,62–274,65)	66,995 (26,02–224,37)	0,374	
D4 em	30,94 (13,02–97,45)	24,71 (17,98–188,92)	1,000	
D14 fm	35,61 (19,50–92,46)	55,52 (26,59–82,05)	0,635	
D14 em	34,965 (17,48–85,82)	29,33 (11,87–87,45)	0,733	
Dag	Box-bur (N=5) (min-max)	Box-box (N=4) (min-max)	Bur-box (N=5) (min-max) ¹	P
D26 fm	30,15 (20,08–31,27)	16,82 (6,32–28,37)	22,11 (7,49–109,89)	0,206
D26 em	19,83 (8,74–33,62)	23,39 (20,55–35,26)	17,31 (9,43–96,24)	0,367

6.3 Grisskriktestet

Medeltalen för hjärtpulserna i grisskriktestet presenteras i bild 6. Vilopulsen hade medeltalet 84 slag/minut med standardavvikelsen 11. Pulsen stiger i samband med skriken i jämförelse med vilopulsen och värden som skiljer sig signifikant ($p < 0,05$) förekommer i samband med alla skrik.

¹ Under D24 förflyttades fem av bursuggorna till boxar

Tabell 2. Medianen samt minimi- och maxvärden för medelhjärtfrekvensen (slag/min) i grisskriktestet.

	Medeltal	Min	Max
Vilopuls	83,90	63	96
Skrik 1	89,20	77	116
Skrik 2	93,80	77	108
Skrik 3	95,10	77	111
Skrik 4	95,90	78	117
Skrik 5	93,90	78	118

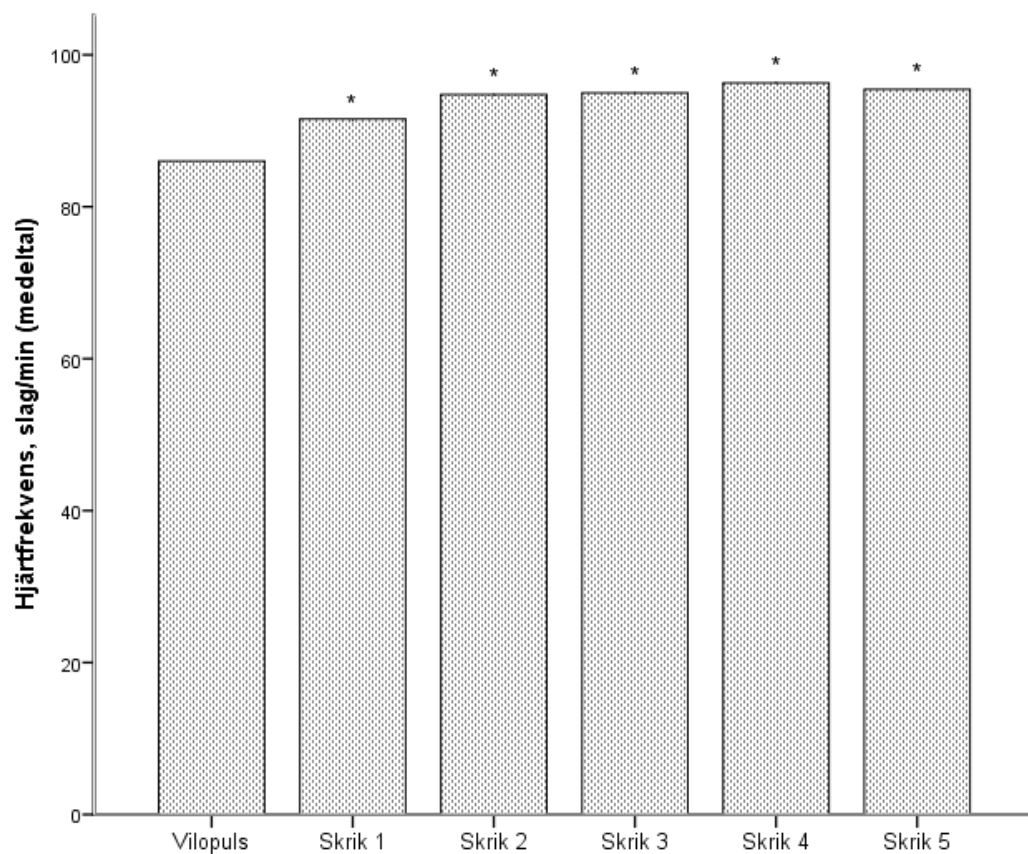


Bild 6. Medeltalet av hjärtfrekvenserna vid grisskriktestet. Värden märkta med asterix (*) skiljer sig signifikant från vilopulsen ($p < 0,05$).

6.4 Hjärtpulsen och beteendet

I tabell 3 presenteras resultaten för ANOVA-testet. Under skrik 3 och 4 visade sig hjärtpulsen signifikant korrelera med beteendet, alltså ifall suggan visade en tydlig reaktion med hela kroppen steg också hjärtpulsen. Det fanns också en tendens för detta i skrik 2 och 5.

Tabell 3. Resultat för ANOVA-test mellan hjärt puls och beteende. Värdena i spalterna för 0, 1 och 2 anger medeltalet för hjärtfrekvensen med standardavvikelsen inom parentes. 0=ingen synlig reaktion, 1=liten reaktion, t.ex. rörelse med huvudet och 2=tydlig reaktion; är rastlös, ställer sig upp och stå, upprepade rörelser med huvudet. Värden utmärkta med asterix (*) visar att de olika grupperna skiljer sig signifikant från varandra ($p<0,05$) och visar att det finns ett samband mellan beteendet och hjärtfrekvensen.

	0 (N=5) (Std. D)	1 (N=5)(Std. D)	2 (N=3)(Std. D)	F	Sig.
Vilopuls	83,60 (9,290)	85,80 (16,829)	94,67 (4,163)	0,798	0,477
Skrik 1	87,20 (4,970)	91,60 (15,209)	108,33 (7,506)	3,852	0,058
Skrik 2	90,80 (4,025)	98,00 (13,191)	113,67 (21,362)	2,947	0,099
Skrik 3	88,60 (7,893)	97,00 (12,629)	116,33 (17,616)	4,823	0,034*
Skrik 4	91,00 (6,671)	95,60 (10,922)	117,33 (14,503)	6,441	0,016*
Skrik 5	89,60 (6,107)	95,00 (14,283)	112,00 (8,485)	3,123	0,093

6.5 Hjärtpulsen och miljön

I samband med skrik 2, 3 och 4 tenderade hjärtfrekvensen att skilja sig mellan de två miljöerna. Pulsen var högre för de suggor som inte var fixerade i burar. Vilopulsen visade sig vara på samma nivå i de båda grupperna. Resultaten för ANOVA-testet presenteras i tabell 4.

Tabell 4. ANOVA-test för miljöns inverkan på hjärtpulsen. Medeltalen samt standardavvikelserna för hjärtfrekvenserna finns presenterade i bur- och boxstaplarna. Värden utmärkta med asterix (*) tenderade att skilja sig signifikant från vilopulsen ($p < 0,1$).

	Bur (N=10)(Std. D)	Box (N=4)(Std. D)	F	Sig.
Vilopuls	87,10 (9,243)	84,25 (18,751)	0,153	0,703
Skrik 1	91,30 (12,275)	96,25 (16,215)	0,392	0,543
Skrik 2	93,50 (9,046)	108,75 (21,884)	3,669	0,080*
Skrik 3	93,20 (11,564)	109,75 (18,191)	4,276	0,061*
Skrik 4	95,00 (3,590)	108,50 (16,135)	3,219	0,098*
Skrik 5	93,50 (4,067)	102,00 (7,211)	1,152	0,306

7 Diskussion

Syftet med denna forskning var att försöka utveckla metoder med vilka man kan mäta suggors välmående, och i denna licentiatavhandling har fokuset varit på hjärtfrekvensen och salivets kortisolkoncentration och korrelationer mellan dessa och miljön samt beteendet. Resultaten visar att vid ett akut stresstillstånd stiger hjärtfrekvensen medan kortisolkoncentrationen rentav sjunker.

7.1 Flytten

Vid förflyttningen av suggorna steg hjärtfrekvensen som väntat. Under den mätningstid vi använde oss av (45 min) hann pulsen aldrig återgå till den ursprungliga vilopulsens men den statistiska skillnaden till vilopulsens hann försvinna. Det här tyder på att det kan krävas en längre mätningstid för att undersöka hur länge det tar för suggan att fysiologiskt anpassa sig till den nya situationen, men vår studie visar ändå att det finns tecken på att

det här sker. Det här gäller även salivens kortisolhalt, som i motsats till tidigare studier (Parrott m.fl. 1998, Broom m.fl. 1996, Schmidt m.fl. 2010a) sjönk efter flytten. En hypotes till detta överraskande resultat kan vara att tidpunkten för flytten är orsaken till minskningen. Flyttningarna ägde rum mellan klockan 10 och 14 och det finns därmed en möjlighet att utfodringen som ägde rum kl. 08:00 påverkat kortisolkoncentrationen i och med att det i tidigare studier har upptäckts en topp i kortisolkoncentrationen fyra timmar före eller två timmar efter utfodringen (Hillmann m.fl. 2008). Det att kortisolkoncentrationen sjunker i vårt försök kan bero på att kortisolnivån varit temporärt hög på grund av utfodringen och håller vid mätningstidpunkten på att återgå till den normala rytmen.

Salivens kortisolhalt håller på att stiga i det sista provet som togs 45 minuter efter flytten. Cook m.fl. (1996) visar att man tillförlitligt kan anta att salivens kortisolhalt hos svin utan fördröjning når en förhållandevis lika stor kortisolkoncentration som i blodplasman, och därmed kan man utesluta att mätningsspektrumet varit för snävt för att upptäcka eventuella stigningar i blodplasmans kortisol som skett inom detta tidsintervall. Det här utesluter dock inte möjligheten att kortisolet i blodplasman stiger med en fördröjning efter stressmomentet, och att det hade krävts en längre mätningstid för att notera förändringar i kortisolhalten.

En annan synpunkt på att kortisolet inte stiger som väntat är att dräktigheten i sig påverkar resultatet. Hos människan har det konstaterats att kortisolhalten hos gravida kvinnor som utsatts för fysiologisk stress inte stigit lika mycket som hos kvinnor som inte varit gravida. Man kan därmed fundera ifall samma information eventuellt kunde tillämpas på djur och om det här kunde vara orsaken till att kortisolhalten sjönk vid flytten (Kammerer m.fl. 2002).

När suggorna förflyttades från boxarna till grisionsburar respektive nya boxar observerade vi en viss variation i hur varje flytt förlöpte. Om man driver suggan för snabbt fram kan de bli riktigt stressade av själva flytten och det kan därmed påverka resultaten (Parrott m.fl. 1998). I vårt försök var en sugga riktigt nervös och blev rejält uppskrämd under flytten. Dock sjönk pulsen drastiskt direkt efter att flytten var avklarad och drar

nödvändigtvis inte upp medelpulsen väsentligt för suggorna. En del suggor krävde att man föste med drivskiva men de flesta flyttades relativt lugnt.

Angående eventuell korrelation mellan kortisol och hjärtfrekvens efter flytten visade sig basalkortisolet ha en tendens att korrelera negativt med hjärtfrekvensen. I en studie som utförts på hästar (Janczarek m.fl. 2013) föreslogs en hög kortisolkoncentration ge upphov till en hög hjärtfrekvens, men i vårt försök fanns det ingen tydlig korrelation mellan medelpuls och kortisol.

7.2 Den långsiktiga kortisolkoncentrationen

Ett bevis på att suggorna har en dygnsrytm i kortisolhalten ses vid jämförelse av koncentrationen på morgonen med den på kvällen, och kvällskoncentrationen noteras vara betydligt lägre. Från och med dag 4 efter grisningen visar proverna att kortisolkoncentrationen skjuter i höjden enligt normal fysiologi (Sjaastad m.fl. 2010) och återgår till det normala en tid efter grisningen (Thodberg m.fl. 2002).

Under D-7, D-5 och D-1 var kortisolkoncentrationen signifikant högre hos de suggor som befann sig i boxar än de i burar. Som bl.a. De Jong m.fl. (2000a) visar var basalkoncentrationen av kortisol hos svin lägre hos de individer som befann sig i en karg box än de svin som befann sig i en box med tillgång till halm, och det här kan tyda på kronisk stress (De Jong m.fl. 2000a). Också Hales m.fl. (2015) visar att suggor i boxar hade högre kortisolhalt under dagarna kring grisningen än de suggor som åtminstone i något skede tills dag 4 efter grisningen varit fixerade i burar (Hales m.fl. 2015).

Enligt Miller m.fl. (2007) har man konstaterat en sänkning i kortisolhalten hos kroniskt stressade människor, och mekanismen från hyperkortisolism till hypokortisolism är svår att förstå. Det finns en hypotes enligt vilken HPA-axelns respons på stressmomentet baserar sig på vilka känslor människan känner. De mest typiska känslorna för

hypokortisolism hos människan är skam och förlust (Miller m.fl. 2007) och det är inte uteslutet att liknande fenomen i anknytning till känslor också kan påträffas hos djur.

7.3 Grisskriktestet

I resultatet ser man att hjärtfrekvensen ökar vid varje skrikintervall och resultatet skiljer sig signifikant från vilopulsen. I samband med det tredje och fjärde skriet i testet där suggans reaktion jämfördes med pulsen finns det en signifikant skillnad mellan de olika reaktionerna. Det här betyder att den reaktion suggorna visade med kroppsspråket i testet korrelerar med pulsen, det vill säga en tydlig reaktion med kroppsspråket innebär också en hög hjärtfrekvens. När miljön jämfördes med pulsen visade det sig finnas en tendens till skillnad i det andra, tredje och fjärde skrikintervallet, vilket betyder att de sugor som befann sig i boxar hade en tendens att reagera starkare i och med att de hade högre puls än suggorna i bur. Det här stämmer överens med studien utförd av Thodberg m.fl. (2002), där suggorna i boxarna reagerade snabbare på grisskriktestet än de i burar. Herskin m.fl. (1998) hävdar att suggorna reagerar betydligt mer på grisskriktestet ifall det i boxarna finns tillgång till bobyggningsmaterial i form av sand och halm (Herskin m.fl. 1998). I och med det här ökar antalet överlevande griskultingar och man kan tolka det som att en berikad miljö som gynnar suggans välmående ger ett bättre resultat i testet.

I grisskriktestet var det meningen att studera huruvida suggornas hjärtfrekvenser höjs vid ett skrik från den egna griskultingen. Eftersom vi utgick från naturliga skrin istället för inspelningar fanns det en mångfald bland skriken. En del griskultingar grymtade till en aning och andra skrek väldigt högt. De griskultingar som inte skrek över huvud taget byttes ut mot en annan kulting ur samma kull. Det har diskuterats huruvida typen av skrik har en betydelse vid den här typen av test; är skriket livshotande eller ett skri som signalerar om brist på utrymme (Illmann m.fl. 2008)? Det här påverkar naturligtvis suggans reaktion till situationen, och ifall inte skriket signalerar nöd är responsen antagligen lägre.

Enligt resultat som inte presenteras i denna avhandling observerades en högre förändring i hjärtfrekvens när en annan suggas griskultingar hanterades och gav ifrån sig läten i

samma rum. Förändringen var större i det här fallet till skillnad från det egentliga testet. För att undvika det här problemet skulle det ha krävts att ha suggorna fördelade i fler rum, så att inte mer än ett test i varje avdelning skulle ha ägt rum per dag. Suggorna bör med fördel befinna sig utom hörhåll från varandra (Held m.fl. 2007). En annan följd av att suggorna reagerade på de andra suggornas griskultingar var svårigheter i att få mätt en pålitlig vilopuls. I ett par skeden var vi tvungna att påbörja grisskriktestet på en annan sugga innan vi lyckades få de övriga suggorna att resa sig och på så sätt lyckas sätta fast pulsmätningstrustningen. Problemet försökte vi lösa genom att definiera vilopulsen som en låg jämn puls antingen före eller en längre tid efter att testet hade utförts. Därför kan man inte anta att den uppmätta vilopulsen är helt överensstämmande med den verkliga vilopulsen.

Något man alltid bör beakta vid användningen av hjärtfrekvensen i en studie är att kvalitén på signalen man får med hjälp av pulsmätningstrustningen är av stor betydelse för resultatet. EKG-data som är så felfritt som möjligt ger ett pålitligt resultat (Poletto m.fl. 2011). Vid ett par mätningar i försöket var signalen dålig eller oregelbunden och några korta intervaller hade inte spelats in över huvud taget, och därmed innehöll EKG-sekvenserna ett antal artefakter. Efter att ha korrigerat EKG-kurvorna i Polars program kan man anta att kurvorna är relativt pålitliga (Marchant-Forde m.fl. 2004).

Det man ytterligare kan spekulera kring är av hur stor betydelse antalet tidigare grisningar utgör i resultatet. Held m.fl (2006) visar i sitt grisskriktest hos suggor som hölls utomhus att de suggor som grisat fyra gånger reagerar mindre på skrien än de som bara grisat ett fåtal gånger. På individuell nivå reagerade de suggor som reagerat starkast under första grisningen också starkast under den fjärde grisningen, men överlag i lägre grad (Held m.fl. 2006). I vårt försök använde vi oss av suggor som grisat 2–6 gånger och man kan fundera ifall det här kan påverka resultaten i en sådan grad att man borde använda sig av suggor vilka alla har samma grisningsantal.

7.4 Slutsats

Vårt försök visar att det är möjligt att vidareutveckla dessa metoder för att mäta stressnivån hos suggor. Genom att mäta kortisolhalten kan man få ett hum om stressnivån, men metoden har ändå en del brister eftersom det finns så många variabler som kan tänkas påverka resultatet, såsom ålder, antal grisningar, yttre irritationsmoment och givetvis individuella skillnader. Dessutom kan det vara en utmaning att skilja akut stress i form av hyperkortisolemi från kronisk stress i form av hypokortisolemi. Basalkoncentrationen visade sig vara lägre hos bursuggor än de suggor som vistades i boxar, vilket kan tyda på kronisk stress.

Vårt grisskriktest visar att hjärtfrekvensen stiger hos en sugga när hon hör sin kultings skri. En stigande hjärtfrekvens är ett tydligt tecken på ett fysiologiskt eller psykologiskt stressmoment, men med detta förfarande är det svårt att mäta responsen på långsiktiga stress-situationer. Också vid flytten av suggorna till nya miljöer var pulsen signifikant hög en lång tid efter att flytten avslutats, vilket tyder på akut stress.

8 Källförteckning

Anil L, Anil S, Deen J, Baidoo S, Walker R. Effect of group size and structure on the welfare and performance of pregnant sows in pens with electronic sow feeders. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 2006, 70: 128–136

Arey D, Sancha S. Behaviour and productivity of sows and piglets in a family system and in farrowing crates. *Applied Animal Behaviour Science* 1996, 50: 135–145

Bacci M, Nannoni E, Govoni N, Scorrano F, Zannoni A, Forni M, Martelli G, Sardi L. Hair cortisol determination in sows in two consecutive reproductive cycles. *Reproductive Biology* 2014, 14: 218–223

Broom D. M, Goode J. A, Hall S. J. G, Lloyd D. M, Parrott R. F. Hormonal and physiological effects of a 15 hour road journey in sheep: comparison with the responses to loading, handling and penning in the absence of transport. *Br. Vet. J* 1996, 152: 59 – 604

Burnett T, Madureira A, Silper B, Tahmasbi A, Audrey N, Veira D, Cerri R. Relationship of concentrations of cortisol in hair with health, biomarkers in blood, and reproductive status in dairy cows. *J. Dairy Sci* 2015, 98: 4414–4426

Chaloupková H, Illmann G, Pedersen L, Malmkvist J, Simeckova M. Sow responsiveness to human contacts and piglet vocalization during 24 h after onset of parturition. *Applied Animal Behaviour Science* 2008, 112: 260–269

Cook N, Schaefer A, Lepage P, Morgan Jones S. Salivary vs. serum cortisol for the assessment of adrenal activity in swine. *Canadian Journal of Animal Science* 1996, 76: 329–335

Couret D, Otten W, Puppe B, Prunier A, Merlot E. Behavioural, endocrine and immune responses to repeated social stress in pregnant gilts. *Animal* 2009, 3 (1): 118–127

Cronin G, Barnett J, Hodge F, Smith J, McCallum T. The welfare of pigs in 2 farrowing lactation environments – cortisol responses of sows. *Applied Animal Behaviour Science* 1991, 32: 117–127

De Jong I C, PELLE I, van de Burgwal J, Lambooji E, Korte S, Blokhuis H, Koolhaas J. Effects of environmental enrichment on behavioral responses to novelty, learning and memory, and the circadian rhythm in cortisol in growing pigs. *Physiology & Behavior* 2000a, 68: 571–578

De Jong I C, Sgoifo A, Lambooji E, Korte S, Blokhuis H, Koolhaas J. Effects of social stress on heart rate and heart rate variability in growing pigs. *Canadian Journal of Animal Science* 2000b, 80: 273–280

Düpjan S, Schön P-C, Puppe B, Tuchscherer A, Manteuffel G. Differential vocal responses to physical and mental stressors in domestic pigs (*Sus scrofa*). *Applied Animal Behaviour Science* 2008, 114: 105–115

Düpjan S, Tuchscherer A, Langbein J, Schön P-C, Manteuffel G, Puppe B. Behavioural and cardiac responses towards conspecific distress calls in domestic pigs. *Physiology & Behavior* 2011, 103: 445–452

Hales J, Mousten V, Nielsen M, Hansen C. Effects of temporary confinement of sows for 4 days after farrowing on sow behaviour and saliva cortisol. In *Proceedings of the International conference on pig welfare: improving pig welfare – what are the ways forward?* Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri, s. 68

Ekkel E, Dieleman S, Schouten W, Portela A, Cornélissen G, Tielen M, Halberg F. The circadian rhythm of cortisol in the saliva of young pigs. *Physiology & Behavior* 1996, 60(3): 985–989

Evans F, Christopherson R, Aherne F. Development of the circadian rhythm of cortisol in the gilt from weaning until puberty. *Canadian Journal of Animal Science* 1988, 68: 1105–1111

Fureix C, Jegou P, Henry S, Lansade L, Hausberger M. Towards an ethological animal model of depression? A study on horses. *PLoS ONE* 2012, 7(6): 1–9

Held S, Mason G, Mendl M. Maternal responsiveness of outdoor sows from first to fourth parities. *Applied Animal Behaviour Science* 2006, 98: 216–233

Held S, Mason G, Mendl M. Using the piglet scream test to enhance piglet survival on farms: data from outdoor sows. *Animal Welfare* 2007, 16: 267–271

Herskin M S, Jensen K H, Thodberg K. Influence of environmental stimuli on maternal behaviour related to bonding, reactivity and crushing of piglets in domestic sows. *Applied Animal Behaviour Science* 1998, 58: 241–254

Hillmann E, Schrader L, Mayer C, Gygax L. Effects of weight, temperature and behaviour on the circadian rhythm of salivary cortisol in growing pigs. *Animal* 2008, 2(3): 405–409

Illmann G, Neuhauserova K, Pokorna Z, Chaloupkova H, Simeckova M. Maternal responsiveness of sows towards piglet's screams during the first 24 h postpartum. *Applied Animal Behaviour Science* 2008, 112: 248–259

Janczarek I, Bereznowski A, Strzelec K. The influence of selected factors and sport results of endurance horses on their saliva cortisol concentration. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2013, 16 (3): 553–541

Janssens C, Helmond F, Wiegant V. Increased cortisol response to exogenous adrenocorticotrophic hormone in chronically stressed pigs: influence of housing conditions. *Journal of Animal Science* 1994, 72: 1771–1777

Janssens C, Helmond F, Wiegant V. The effect of chronic stress on plasma cortisol concentrations in cyclic female pigs depends on the time of the day. *Domestic Animal Endocrinology* 1995, 12: 167–177

Jarvis S, Lawrence A, McLean K, Chrinside J, Deans L, Calvert S. The effect of environment on plasma cortisol and beta-endorphin in the parturient pig and the involvement of endogenous opioids. *Animal Reproduction Science* 1998, 52: 139–151

Kammerer M, Adams D, von Castelberg B, Glover V. Pregnant women become insensitive to cold stress. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2002, 2(8)

Marchant-Forde R, Marlin D, Marchant-Forde J. Validation of a cardiac monitor for measuring heart rate variability in adult female pigs: accuracy, artefacts and editing. *Physiology & Behavior* 2004, 80: 449–458

Miller G, Chen E, Zhou E. If it goes up, must it come down? Chronic stress and the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in humans. *Psychological Bulletin* 2007, 133 (1): 25–45

Mohr E, Langbein J, Nürnberg G. Heart rate variability, a noninvasive approach to measure stress in calves and cows. *Physiology & Behavior* 2002, 75: 251–259

Parrott R, Hall S, Lloyd D. Heart rate and stress hormone responses of sheep to road transport following two different loading procedures. *Animal Welfare* 1998, 7: 257–267

Poletto R, Janczak A, Marchant-Forde R, Marchant-Forde J, Matthews D, Dowell C, Hogan D, Freeman L, Lay Jr D. Identification of low and high frequency ranges for heart rate variability and blood pressure variability analyses using pharmacological autonomic blockade with atropine and propranolol in swine. *Physiology & Behavior* 2011, 103: 188–196

Oliviero C, Heinonen M, Valros A, Hälli O, Peltoniemi O. Effect of the environment on the physiology of the sow during late pregnancy, farrowing and early lactation. *Animal Reproduction Science* 2008, 105: 365–377

Rietmann T, Stuart A, Bernasconi P, Stauffacher M, Auer J, Weishaupt M. Assessment of mental stress in warmblood horses: heart rate variability in comparison to heart rate and selected behavioural parameters. *Applied Animal Behaviour Science* 2004, 88: 121–136

Ruis M, Te Brake J, Engel B, Ekkel D, Buist W, Blokhuis H, Koolhaas J. The circadian rhythm of salivary cortisol in growing pigs: Effects of age, gender and stress. *Physiology & Behavior* 1997, 3: 623–630

Schmidt A, Hödl S, Möstl E, Aurich J, Müller J, Aurich C. Cortisol release, heart rate and heart rate variability in transport-naïve horses during repeated road transport. *Domestic Animal Endocrinology* 2010a, 39: 205–213

Schmidt A, Möstl E, Wehnert C, Aurich J, Müller J, Aurich C. Cortisol release and heart rate variability in horses during road transport. *Hormones and Behavior* 2010b, 57: 209–215

Schmidt A, Biau S, Möstl E, Becker-Birck M, Morillon B, Aurich J, Faure J.-M., Aurich C. Changes in cortisol release and heart rate variability in sport horses during long-distance road transport. *Domestic Animal Endocrinology* 2010c, 38: 179–189

Sjaastad Ø, Sand O, Hove K. *Physiology of Domestic Animal*. 2:a uppl. Scandinavian Veterinary Press 2010, s. 244, 247–248, 727

Thodberg K, Jensen K, Herskin M. Nursing behaviour, postpartum activity and reactivity in sows, Effects of farrowing environment, previous experience and temperament. *Applied Animal Behaviour Science* 2002, 77: 53–76

Valros A, Munsterhjelm C, Puolanne E, Ruusunen M, Heinonen M, Peltoniemi O, Pösö R. Physiological indicators of stress and meat and carcass characteristics in tail bitten slaughter pigs. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2013, 55 (75)

Verdon M, Morrison R, Rice M, Hemsworth P. Individual variation in sow aggressive behavior and its relationship with sow welfare. *Journal of Animal Science* 2016, 94: 1203–1214

Wechsler B, Hegglin D. Individual differences in the behaviour of sows at the nest-site and the crushing of piglets. *Applied Animal Behaviour Science* 1997, 51: 39–49

Yun J, Swan K-M, Oliviero C, Peltoniemi O, Valros A. Effects of prepartum housing environment on abnormal behavior, the farrowing process, and interactions with circulating oxytocin in sows. *Applied Animal Behaviour Science* 2015, 162: 20-25